



Preferential infiltration of IL-4-producing CXCR4+ T cells in the lesional muscle but not skin of patients with dermatomyositis

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2015-02-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 藤山, 俊晴 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2792

博士(医学) 藤山 俊晴

論文題目

Preferential infiltration of IL-4-producing CXCR4⁺ T cells in the lesional muscle but not skin of patients with dermatomyositis

(皮膚筋炎患者において CXCR4 陽性 IL-4 産生性の T 細胞が皮膚ではなく筋肉に選択的に浸潤する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

皮膚筋炎 (DM)/多発性筋炎 (PM) は代表的な自己免疫性筋炎を呈する疾患である。DM は筋炎に加えて、特徴的皮疹を主徴とする疾患で、時に内臓悪性腫瘍や間質性肺炎を合併する。過去の報告によると、筋炎の病理組織像は DM では CD4 陽性 T 細胞や B 細胞、マクロファージが、PM では CD8 陽性 T 細胞とマクロファージが主に浸潤する。皮膚の炎症部位では、IL-2 や IL-4、IFN- γ を産生する CD4 陽性 T 細胞が浸潤するとされている。これらの報告から、皮膚及び筋肉に T 細胞が多く浸潤し、炎症の形成に重要な役割担うことが示唆されるが、その浸潤 T 細胞の詳細な形質や機能などは十分に明らかにされていない。過去の DM/PM における T 細胞研究の多くは、その入手の容易さから末梢血単核球や組織の免疫染色等を用いて行われてきた。今回私たちは DM/PM の皮膚及び筋組織から浸潤 T 細胞を分離培養し、この細胞の同定と機能の評価を試みた。今回の方法で得られた T 細胞は、免疫染色所見との比較から組織中の浸潤細胞を忠実に再現しており、皮膚と筋浸潤細胞は異なるクローンであり、CXCR4 陽性、IL-4 産生性の T 細胞が軽症の筋炎に関連していることが示された。

[材料ならびに方法]

新規に診断された 25 名の DM および 3 名の PM 患者より得られた筋または皮膚生検組織の一部を用いて T 細胞の分離培養を行った。残りは通常の病理組織診断および免疫組織化学染色に用いた。組織浸潤 T 細胞の分離培養は、採取した組織の一部をヒト AB 型血清、合成ヒト IL-2、抗 CD3/CD28 抗体を付着させたビーズを添加した cRPMI1640 培養液に浸して 2-4 週間培養する方法で行い、組織浸潤培養 T 細胞を約 10^7 個得た。得られた細胞を蛍光標識抗体で染色し、ケモカインレセプターを含む細胞表面抗原、T 細胞受容体 V β 領域をフローサイトメトリーで解析した。得られた T 細胞を抗 CD3 抗体で刺激し培養上清中のサイトカイン濃度を Cytometric Beads Array で測定しサイトカイン産生能を評価した。また、組織浸潤培養 T 細胞を PMA および calcium ionophore で刺激した後、細胞内染色を行いフローサイトメトリーで細胞内サイトカインを測定した。本研究は浜松医科大学医の倫理委員会の承認を受け書面による同意を得て行った。

[結果]

組織浸潤培養 T 細胞の CD4/CD8 比は、組織の免疫組織染色の所見と強く相関しており、培養細胞が元の浸潤細胞の集団を反映していると考えた。ただし、組織中の CD4 陽性細胞は樹状細胞なども含むことから、CD3 陽性 T 細胞数と CD8 陽性 T 細胞

数の差を CD4 陽性 T 細胞数として用いた。T 細胞受容体 V β 領域の解析では、特に筋浸潤培養 T 細胞において V β 領域の頻度が著しく偏っていた。しかし、同一患者において、筋及び皮膚浸潤培養 T 細胞の V β 領域頻度の偏り大きく異なっていた。このことから、筋と皮膚では T 細胞は異なる抗原に反応していることが示唆された。患者間でも共通の V β 領域を持つ細胞が増殖する傾向は見られなかった。他の細胞表面抗原の発現解析では、筋及び皮膚浸潤培養 T 細胞の多くは CD45RO 陽性、CCR7 陰性のエフェクターメモリー T 細胞であった。筋浸潤培養 T 細胞と皮膚浸潤培養 T 細胞を比較すると、皮膚浸潤培養 T 細胞は皮膚への親和性を示す cutaneous lymphocyte antigen(CLA)および CCR10 を高率に発現していたのに対して、筋浸潤培養 T 細胞は CXCR4 を高頻度に発現していた。今回得られた筋組織の免疫染色では CXCR4 のリガンドである SDF-1 が血管内皮細胞に強く発現していた。

サイトカイン産生能の評価では、筋浸潤 T 細胞は同一患者の皮膚浸潤培養 T 細胞より多くの IL-4 を産生していた。筋浸潤培養 T 細胞の産生する IL-4 の量は DM/PM の筋炎の程度を反映する血清 CPK 値や LDH 値と負の相関を示した。更に筋浸潤培養 T 細胞の産生した IL-4/IFN- γ の比は血清 CPK 値や LDH 値とより強い負の相関を示した。この相関は、皮膚浸潤培養 T 細胞では見られなかった。細胞内サイトカイン染色でも、IL-4 産生 CD4 陽性 T 細胞の頻度と血清 CPK 値や LDH 値の間に負の相関が見られた。筋浸潤培養 CD4 陽性 T 細胞では CXCR4 陽性の細胞が陰性の細胞より IL-4 陽性率が高かった。

[考察]

組織浸潤培養 T 細胞の多くはエフェクターメモリー T 細胞であり、組織の免疫組織染色所見と強い相関があり、CD4 陽性 T 細胞や CD8 陽性 T 細胞に偏らない培養増幅が確認された。その細胞は、T 細胞受容体 V β 領域の解析結果より、MHC と結合した各組織特異的な抗原に対して別個に反応していることが示唆された。筋浸潤培養 T 細胞は CXCR4 を発現しており、筋の血管内皮細胞が発現する SDF-1 により選択的に浸潤していると推測される。筋浸潤培養 T 細胞は多くの IL-4 を産生しており、この産生量が筋炎の重症度と逆相関していたことから、IL-4 は筋炎に対して抑制的に働くと考えた。IL-4 は筋肉の発達における重要な因子でもあることから、筋炎における筋の再生に関係している可能性がある。CXCR4 陽性細胞は陰性細胞に比して IL-4 陽性細胞の頻度が高いことから、CXCR4 を発現した Th2 細胞は、筋肉内で発現された SDF-1 により筋組織に誘導され、筋炎に対して抑制的または、改善させる方向に働いていると考える。

[結論]

CXCR4 を発現する IL-4 産生性 T 細胞は選択的に筋肉に浸潤し、この細胞は軽症の筋炎に関連している。